

三重四极杆液质联用仪测定减肥类保健品中奥利司他

LCMSMS-114

摘要： 本文使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用建立一种外标法测定减肥类保健品中奥利司他的方法。借助超高效液相色谱 LC-30A 在 4 min 内实现快速分离，三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 进行定量分析，因此可以快速、准确地测定奥利司他。奥利司他的线性良好，相关系数均大于 0.9999；不同浓度的精密度实验结果表明：其保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.23 ~ 0.47% 和 1.03 ~ 2.00% 之间，仪器精密度良好；奥利司他的检出限为 0.02 μg/L，定量限为 0.08 μg/L；样品加标回收率为 93.6 ~ 111.5% 之间。

关键词： 减肥类保健品 奥利司他 超高效液相色谱仪 三重四极杆质谱仪

奥利司他是近年来研发用于减肥的新药，它是长效的特异性胃肠道脂肪酶抑制剂，能竞争性抑制摄入脂肪的吸收，从而能有效减轻体重。尽管这种药物的减肥效果明显，但所带来的不良反应也应引起消费者的关注。国家药品不良反应监测中心和美国食品药品监督管理局（FDA）都发布指出，服用减肥药奥利司他轻者可能出现便秘、腹痛、腹泻、头晕、月经紊乱、皮疹等不良反应，严重者会引发结肠癌和乳腺癌的危险，如若消费者在不知情和未按药物处方的情况下长期服用，更会严重影响身体健康。因此，建立一种检测方法来监控不法厂商在减肥类保健品中非法添加奥利司他是十分必要的。

目前，国内外报道的检测方法有 HPLC 法，HPLC-MS 法，HPLC-MS/MS 法和 GC-MS/MS 等方法。因此，本文参考相关文献，使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用，建立了减肥类保健品中奥利司他的分析方法，此方法采用外标法，操作简单，分析快速、选择性强和灵敏度高，供相关检测人员参考。

实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统。具体配置为 LC-30AD×2 输液泵，DGU-20A5 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-30A 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，

LCMS-8040 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.54 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相色谱条件

分析仪器：LC-30A 系统

色谱柱：Shimadzu Shim-pack XR-ODS III 2.0 mmI.D. × 50 mmL., 1.6 μm

流动相：甲醇：10mM 乙酸铵水溶液（90:10）

流速：0.4 mL/min

进样体积：5 μL

柱温：40℃

洗脱方式：等度洗脱

质谱条件

分析仪器：LCMS-8040

离子源：ESI，正离子扫描

离子源接口电压：4.5 kV

雾化气：氮气 3.0 L/min

干燥气：氮气 15 L/min

碰撞气：氩气

脱溶剂管温度：250℃

加热模块温度：450℃

扫描模式：多反应监测（MRM）

驻留时间：100 ms

延迟时间：3 ms

MRM 参数：MRM 分组采集，见表 1

表1 MRM参数

名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
奥利司他	496.4	319.2*	-14	-14	-23
		160.2	-14	-14	-28

1.3 样品制备

标准溶液配制：用甲醇配制 1000 mg/L 的标准溶液，用甲醇稀释成 0.2、0.5、1、5、20、50 和 200 μg/L 不同浓度的标准工作液。

样品前处理方法：称取样品 0.50 g，置 50 mL 塑料离心管中，加入 25 mL 甲醇，超声 30min，然后以 10000 rpm 转速离心 10 min，取上清液，经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后，用液质分析。

结果讨论

2.1 标准样品一级质谱图和产物离子扫描质谱图

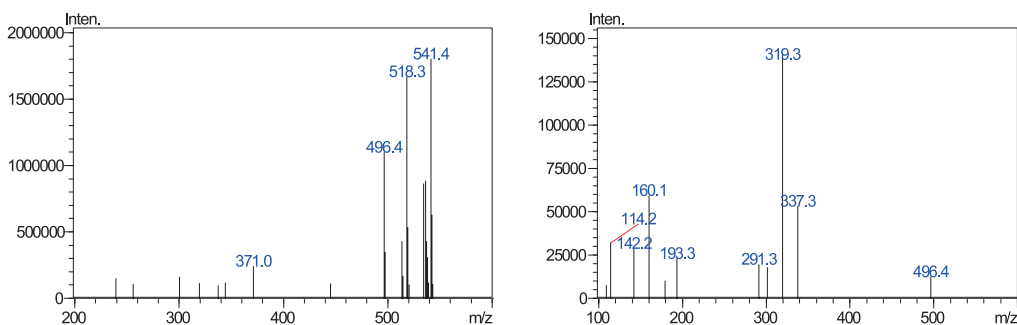


图1 奥利司他的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值-16V，右图）

2.2 标准样品的 MRM 色谱图

标准样品的 MRM 色谱如图 2 所示。

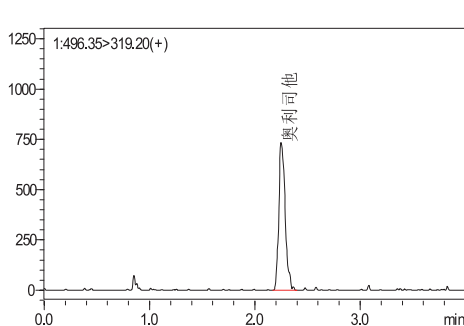


图2 0.5 μg/L标准样品的MRM色谱图

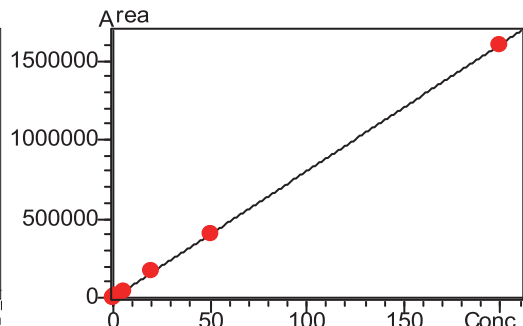


图3 奥利司他的工作曲线

2.3 线性关系

将浓度为 0.2、0.5、1、5、20、50 和 100 μg/L 奥利司他的标准工作液，按 1.2 中的分析条件进行测定，外标法制作校准曲线，如图 3 所示。奥利司他的线性方程为 $Y = (8031.38)X + (-498.341)$ ，相关系数为 0.9999，线性良好。

2.4 检出限和定量限

配制 7 份标准溶液，进样分析，对上述测定结果剔除离群值后将各自的 7 次测定结果计算其标准偏差 S，此时检出限 $MDL = 3.14 \times S$ ，定量限 $LOQ = 4 \times MDL$ 。测定结果如表 2 所示：

表2 奥利司他的检出限和定量限

名称	浓度(μg/L)	标准偏差(S)	检出限(μg/L)	定量限(μg/L)
奥利司他	0.2	0.007	0.02	0.08

2.5 精密度实验

配制如表 3 浓度的标液，平行进样 6 次。奥利司他的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.23 ~ 0.47% 和 1.03 ~ 2.00% 之间，仪器精密度良好。

表3 奥利司他的保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

No	RSD% (0.5 µg/L)		RSD% (5 µg/L)		RSD% (50 µg/L)	
	R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
1	2.250	3,329	2.264	34,576	2.272	384,817
2	2.261	3,288	2.250	35,577	2.274	391,025
3	2.245	3,391	2.252	34,556	2.273	379,791
4	2.251	3,339	2.253	34,612	2.278	381,038
5	2.267	3,327	2.263	34,327	2.281	382,874
6	2.272	3,337	2.269	35,171	2.277	385,020
RSD %	0.47	2.00	0.34	1.35	0.23	1.03

2.6 基质加标实验

在按照 1.3 中样品制备方法, 样品中添加标液, 加标含量如表 4。测试结果显示: 减肥药的样品加标回收率在 93.6 ~ 111.5% 之间; 具体结果如表 4。样品基体空白色谱图与加标样的色谱图如图 4 ~ 7 所示。

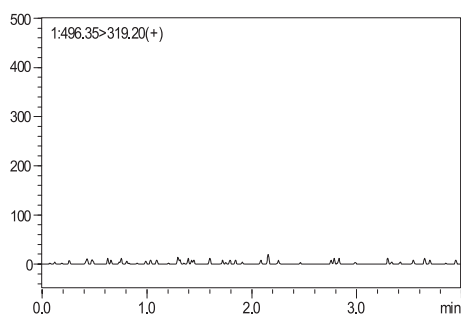


图4 减肥药样品的色谱图

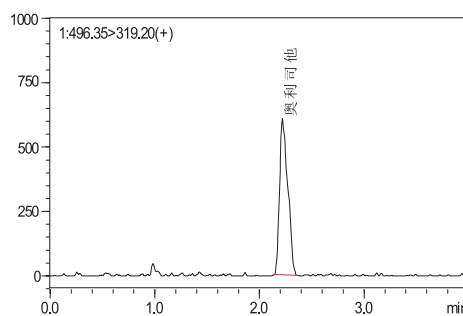


图5 减肥药加标样 (0.025 mg/kg) 的色谱图

表4 加标样的回收率结果

样品名称	样品浓度 (mg/kg)	加标样的回收率%		
		0.025 mg/kg	0.25 mg/kg	2.5 mg/kg
减肥药	ND	94.2	93.6	111.5

注: N.D.表示未检出

结论

使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定测定减肥类保健品中奥利司他的方法。奥利司他的线性良好, 相关系数均大于 0.9999; 检出限分别为 0.02 µg/L(0.001 mg/kg), 定量限分别为 0.08 µg/L(0.004 mg/kg); 对减肥药基质进行加标, 其加标回收率在 93.6 ~ 111.5% 之间。实验结果表明该方法灵敏度高, 岛津超高效液相色谱与三重四极杆质谱联用仪可以满足减肥类保健品中奥利司他的检测需求。